



TITLE:

mRNA核外輸送因子DBP5/DDX19、  
GLE1、IPPKの細胞質mRNA発現な  
らびに細胞表現型に対する特異的  
な機能と影響( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

岡村, 真純

---

CITATION:

岡村, 真純. mRNA核外輸送因子DBP5/DDX19、GLE1、IPPKの細胞質  
mRNA発現ならびに細胞表現型に対する特異的な機能と影響. 京都大学  
, 2019, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21923>

RIGHT:

(続紙 1 )

京都大学	博士（生命科学）	氏名	岡村 真純
論文題目	mRNA核外輸送因子DBP5/DDX19、GLE1、IPPKの細胞質mRNA発現ならびに細胞表現型に対する特異的な機能と影響		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>真核生物における遺伝情報は主に細胞核内にゲノムDNAとして存在する。核内の遺伝情報が発現するためには、ゲノムDNAが転写されメッセンジャーRNA（mRNA）となり様々なプロセッシングを経た後、核膜孔複合体を通じて細胞質に輸送される必要がある。DBP5（DDX19とも記載される）・GLE1・イノシトール-6-リン酸（IP<sub>6</sub>）はmRNAの核外輸送に対して複合体を形成して機能する。DBP5はDEAD-box型RNAヘリカーゼの一種で、mRNAの核外輸送にそのヘリカーゼ活性が必須であり、DBP5の活性はGLE1とIP<sub>6</sub>との相互作用により上昇する。これら3因子はmRNA核外輸送では協働するが、それぞれ固有の機能も知られている。特にGLE1については、神経変性疾患や神経細胞毒性との関連が報告されているが、その詳細については不明な点が多く残されている。</p> <p>本研究は、細胞質mRNAの発現や細胞形質に対するこの3因子の影響をより詳細に明らかにするために、マイクロアレイ解析とノックダウンによる表現型解析を行った。まず、DBP5・GLE1・IPPK（IP<sub>6</sub>合成酵素）それぞれをsiRNAによってノックダウンした結果、予想通りmRNAの核内蓄積が確認された。次に、いずれかの因子をノックダウンした細胞から細胞質RNAを抽出し、マイクロアレイ解析を行った。発現量が低下した因子を機能別に解析したところ、一部の細胞質mRNAサブセット（細胞周期やDNA修復等）の細胞質発現が共通して抑制されており、表現型としてG1/S期アレストが確認された。一方で、細胞分裂の進行に必要な因子の細胞質mRNAの発現はGLE1ノックダウンで特異的に抑制され、結果として紡錘糸の形態異常や細胞分裂の遅延が観察された。DBP5・IPPKのノックダウンでは免疫応答に関する因子の発現低下が見られ、それを反映してpoly(I)-poly(C)二重鎖処理が惹起するIFNβ-1 mRNAの転写が抑制された。</p> <p>GLE1ノックダウンによって特に細胞質 mRNA 発現の低下が見られた遺伝子に、神経変性疾患との関連が報告されている FUS や HDAC1 があつた。またソニックヘッジホッグシグナリングに極めて重要な機能を持つ GLI3 と SMO においても GLE1 ノックダウンによる発現低下が顕著であつた。ソニックヘッジホッグシグナリングの機能不全は神経細胞死をもたらすことが知られている。これらのことから、DBP5・GLE1・IP<sub>6</sub>の中で GLE1 のみが神経変性疾患と関連している理由について今後の解析の手掛かりが得られた。</p> <p>以上の結果により、DBP5・GLE1・IP<sub>6</sub>が有する共通の機能と固有の機能が明確となった。各因子のノックダウンで見られる表現型の差は、各因子の細胞内mRNA発現制御の違いを総合的に反映しているものだと結論づけられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

mRNA 核外輸送は、核内でプロセシングを完了した mRNA をタンパク質翻訳の場である細胞質へと移動させるプロセスである。mRNA は核膜孔を通して核膜の細胞質側に輸送され、その後、DBP5・GLE1・IP<sub>6</sub>によって核膜から細胞質へと放出される。一方でこれら 3 因子は mRNA 核外輸送以外の機能も有することが知られていた。

本学位論文は、細胞質での mRNA の発現に対して、3 因子の影響を明らかにしたものである。それら因子をそれぞれノックダウンした細胞の細胞質から回収した RNA を用いて、それぞれのノックダウンに対応する mRNA の発現をマイクロアレイにより解析した。3 因子で発現が共通に減少した遺伝子が存在した一方で、いずれか 1 つの因子で特異的に発現が減少した遺伝子も存在した。また逆に発現が上昇する遺伝子もそれぞれ存在していた。具体的には、細胞周期や DNA 修復に関わる一群の遺伝子の細胞質発現は共通して減少が見られ、表現形として G1/S 期アレストが観察された。これら一群の遺伝子の細胞質における mRNA 発現は核外輸送に大きく影響を受けることが示唆された。一方で、細胞分裂進行に必要な一群の因子の細胞質における mRNA 発現は、GLE1 でのみ抑制された。DBP5・IPPK のノックダウンでは免疫応答に関する因子の発現低下が見られ、表現形としてインターフェロン  $\beta$ -1 の誘導が抑制された。

また、GLE1 ノックダウンによって神経変性疾患との関連が報告されている FUS や HDAC1 の細胞質 mRNA 発現低下が確認された。ソニックヘッジホッグシグナリングに重要な機能を持つ GLI3 と SMO でも同様の発現低下が観察された。ソニックヘッジホッグシグナリングの機能不全は神経細胞死をもたらすことが知られている。これらの結果は、GLE1 の神経変性疾患との関連を強く示唆するものであり、今後の研究の展開に貢献する成果である。

以上、本論文は DBP5・GLE1・IP<sub>6</sub> が核外輸送という共通の機能を通して制御している遺伝子とそれ以外の機能を通して制御している遺伝子を包括的に同定し、その表現型を観察することでそれら因子の機能を明らかとした。本論文は終始首尾一貫性をもって記述されており、生命科学の理解や発展に寄与する新たな概念や発見を含んでいた。よって本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

平成31年1月17日に、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。公聴会での発表は、本研究の結果と意義を明確に示すものであった。その後の質疑応答では、解析結果とその手法について詳細な議論がなされ、申請者の当該分野における高い学識と考察力、さらに十分な研究経験を示すものであった。以上の結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日